



# Mutualismes fúngics: Formigues i tèrmites conreant sota terra



## Introducció

L'aparició dels cultius per a l'alimentació s'ha desenvolupat complides vegades en el regne animal. L'exemple més prominent és el dels éssers humans. Aquests van començar la transició d'una existència de caçadors-recol·lectors ancestrals cap a l'agricultura fa uns 10.000 anys, i podriem dir que té un origen paral·lel. A més, hi ha hagut un gran progrés agrícola, que s'ha aconseguit a través d'una combinació de factors, tals com la persistència, la planificació creativa, i una bona part de contingència i sort. No obstant això, els éssers humans fins ara no han examinat altres sistemes agrícoles, com els insectes fungícoles, els quals presenten unes adaptacions molt específiques per l'agricultura (Aanen et al. 2005).

L'agricultura de fongs per part dels insectes i la humana comparteixen trets característics i definitoris: plantació habitual ("inoculació") de fongs sèssils en hàbitats particulars o en certs substrats, incloent la sembra de nous jardins amb propaguls del cultiu (llavors, espores, o inòculs) que són seleccionats pels agricultors dels jardins madurs, i que es transfereixen als jardins nous; els tractaments destinats a la millora de les condicions de creixement per al cultiu (per exemple, l'abonament, la regulació de la temperatura, o la humitat), o la protecció dels cultius contra els herbívors/fungívors, paràsits o altres malalties; la recollida dels aliments culturals. La nostra definició de l'agricultura no requereix una intenció conscient en la sembra i la collita. La planificació conscient, l'aprenentatge i l'ensenyament han accelerat clarament el desenvolupament de l'agricultura en els éssers humans, però no pas en els insectes.

L'agricultura es considera com un tipus de forta interacció coevolutiva, definit pels criteris nutricionals i de conducta resumides anteriorment, en què la selecció natural actua sobre els agricultors i els cultius per igual, com linatges reciprocament interdependents. L'enfortiment de coevolució amb l'agricultura no només considera les interaccions entre un insecte fungícol i la seva "collita", sinó també les seves interaccions amb altres patògens i microbis mutualístics. Igual que en els conreus, alguns d'aquests microbis també són gestionats pels fungícoles amb finalitats específiques. En altres paraules, un jardí d'insectes no és un monocultiu pur, sinó una comunitat ecològica complexa i "construïda", que consta de diverses interaccions microbials, de les quals algunes són beneficioses i d'altres perjudicials, pels agricultors (Aanen et al. 2005).



Figura 1: Esbós d'agricultura ancestral humana.

Centrant-nos en els fungícoles, van aparèixer al voltant de 40 a 60 milions d'anys abans de l'esmentada agricultura humana. Es coneixen tres linatges que no donen lloc a ambigüitats i que van evolucionar, de forma independent, cap a la capacitat de cultivar fongs per a la seva pròpia alimentació. Aquests són els tèrmites, les formigues i els escarabats (Mueller et al. 2002). Els dos primers són monofilètics pel que fa a l'aparició de l'agricultura en el seu comportament. Pel que fa als darrers, els escarabats, són parafilètics, com els humans, amb tan sols fins a 7 orígens diferents en l'adquisició de l'agricultura com a mètode de vida. No obstant, aquests últims no els estudiarem.

Com els humans, els fungícoles van passar a dependre dels cultius per a l'alimentació i així van desenvolupar una societat de tasques partides, cooperant d'aquesta manera en gegantines empreses agrícoles (Mueller et al. 2002). Les dependències obligatòries dels insectes agricultors poden ser fàcilment demostrades per l'eliminació experimental de les seves collites cultivades, el que resulta en una menor capacitat reproductiva, augment de la mortalitat, o fins i tot, la mort segura dels insectes privats del cultiu. La vida agrícola permet posar a tots aquests sistemes a l'altura d'una gran importància ecològica. I encara que siguin en alguns aspectes bastant diferents fun de l'altre, en molts més aspectes són similars, el que suggereix una evolució convergent. Així doncs, s'intentarà explicar quin és la raó d'aquesta convergència cap a aquest tan particular sistema de vida, cap aquest mutualisme aparegut en dos linatges ben diferents i tan separats, però amb comportaments tan similars.

## Mutualisme de les formigues: Fungicultura en les *Attina*

Les formigues fungícoles són un grup monofilètic d'al voltant de 220 espècies descrites, i moltes més no descrites, de la tribu *Attini*, subfamília *Mycrmecinae*. Aquestes formigues només es troben en el "Nou Món", i deuen la seva gran diversitat als boscos humits de la regió equatorial d'Amèrica del Sud, la presumpta regió del seu origen evolutiu (Mueller et al. 2001). Són fungícoles obligades, ja que els fongs són l'única font d'aliment per les seves larves, i una important font d'aliment pels seus adults. Encara que aquests darrers són capaços de complementar la seva dieta alimentant-se de suc vegetau, els fongs conreats són suficients per sustentar-los, fins i tot en absència de nutrients addicionals.

En cada generació, els adults reproductors dispersen activament els seus propis fongs quan troben noves colònies. D'aquesta manera, els jardins fúngics es transmeten de forma vertical de generació en generació, quan les cries reproductores de la reina transporten petites boles de inòcul del niu en les seves bubaques infrabucals, bosses presents en la boca de tots les formigues (Mueller et al. 2001). En l'etapa de fundació no es produeix selecció pel que fa als fongs, però es noves reines (cries reproductores) poden seleccionar entre diferents cultius en el seu niu natal abans del seu vol d'aparellament, sempre que coexisteixen múltiples genotips de cultiu dins d'una mateixa colònia.

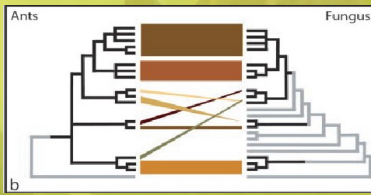


Figura 2: Mueller et al. 2002. La figura mostra un cladograma on es fa un resum dels diferents linatges de formigues fungícoles amb els pertinenents linatges de fongs. En negre els mutualistes, en gris, els no mutualistes.

Com ja s'ha dit, tenen un origen comú, a partir del qual ha donat lloc a quatre sistemes agrícoles diferents (Lopes et al. 2011, Mueller et al. 1998), que coincidíen amb els diferents linatges de formigues i fongs, i que tenen distintes mètodes de cultiu, incloent substrats i un desenvolupament força heterogeni (Caldera et al. 2009). En primer lloc, la forma més comuna de l'agricultura practicada per les *Attini* existents és també la més antiga, que es creu que es va originar fa aproximadament entre 45 i 60 milions d'anys (Mueller et al. 1998). Aquesta és "l'agricultura attine inferior" (lower attine agriculture), la forma més basal de fungicultura fúngica, en la qual les formigues es troben associades amb un grup paral·lel de bolets "parasits" de la tribu *Leucocoprinaceae*. En el segon sistema agrícola, trobem "l'agricultura de coral fúngic" (coral fungus agriculture), un grup d'*Attini* inferiors del gènere *Apterostigma* que secundàriament van passar a conrear fongs de la família *Pterulaceae* (Agaricals). Un altre tipus d'agricultura és la de les formigues del gènere *Cyphomyrmex*, que cultiven els fongs *Leptotrichaceae*, en forma de llevat, pel qual s'anomena "agricultura de llevat" (yeast agriculture). Totes aquestes *Attini* inferiors cultiven en substrats similars, anomenat substrat ancestral, format per parts de flors, increment d'artròpodes, llavors, fragments de fongs, o d'altres restes vegetals similars (Aanen et al. 2005). Nombreuses estructures fructíferes estretament relacionades amb les cultivades per les formigues *Attini* inferiors (algunes genèticament idèntiques als ceps conreats) s'han trobat cada vegada més en la natura, sense cap tipus d'associació obvia amb niu *Attine*. Aquesta observació, juntament amb el fet que els fongs de seqüències idèntiques es troben en nius de formigues llunyanes però relacionades, han portat a la conclusió que les formigues que participen en l'agricultura menor recol·lecten periòdicament els nius fongs de poblacions silvestres, o que els fongs associats amb les *Attini* inferiors regularment "escapen" dels nius de les formigues, o ambdós (Mueller et al. 1998).

Finalment trobem "l'agricultura superior *Attine*" (higher attine agriculture), que és creu que es va originar fa entre 15 i 26 milions d'anys. És un sistema en què el fong conreat aparentment ja no existeix fora del mutualisme amb la formiga (Mueller et al. 2001). L'agricultura superior *Attine* és la transició més recent en fungicultura fúngica i marca l'origen dels dos gèneres de formigues talladores de fulles, *Atta* i *Acromyrmex*, l'única linatge amb la capacitat d'utilitzar material de fulla fresca com a substrat per conrear (Caldera et al. 2009). A més també és pràctic per altres dos gèneres actuals de formigues, *Sericomyrmex* i *Trachymyrmex*, amb la diferència que aquests no són talladors de fulles.

Els fongs de les *Attini* superiors són diferents de tots els altres fongs conreats, és potria dir que són els més adaptats per al conreu. Aquests produeixen infeccions a fil·lars anomenades "gongydia", que creixen en grups anomenats "staphylae", els quals contenen una alta concentració de nutrients. Els "staphylae" són visibles a simple vista i es poden reconèixer fàcilment sota un microscopi. És de suposar que són produïts pels fongs per al benefici de les formigues hoste. També, com ja s'ha comentat, es diferencien en que no s'han trobat com a formes lliures (Mueller, 2002). S'ha vist que hi ha evidències moleculars de que són capaços de reproduir-se sexualment, i produir espores a grans distàncies, tot i que encara no s'han trobat cossos fructífers que ho demostrin (Lopes et al. 2011).

A més de les diferències metodològiques dels cultius, les formigues fungícoles presenten una clara evolució cap a una agricultura més complexa. Aquesta idea es basa en l'observació que alguns gèneres de formigues que conreen fongs tenen més castes obreres i substancialment major grandària en les colònies, en comparació amb els linatges aparentment més basals. A més, l'estructura social de les colònies de formigues segueix un patró de complexitat creixent, amb un monomorfisme de mida en els treballadors dels gèneres basals i un fort polimorfisme de mida en els treballadors dels gèneres més derivats filogenèticament, especialment *Acromyrmex* i *Atta* (Caldera et al. 2009). Aquest polimorfisme s'ha vist que és un reflex de la divisió del treball i l'especialització de tasques dins de les colònies.

Tot i aquestes especialitzacions i diferències entre els cultius, tots els sistemes d'*attini* contenen almenys aquests quatre simbiotes (Caldera et al. 2009): les *attini*, anomenades fungícoles; Els seus cultius de fongs (basidionomits de les famílies fúngiques *Leptotrichaceae* i *Pterulaceae*). Els paràsits de jardí del gènere *Escovopsis* (fongs ascomicets), els quals explòten directament el cultiu de les formigues. Arriben per quimiotaxi, i segueixen compostos que degraden els antibiòtics que inhibeixen el creixement d'*Escovopsis*. Es troben en simbiosi amb la formiga, ja que aquesta té uns porus pels quals aporta nutrients, i als llevats negres, els quals paràsiten la relació mutualística forma-bacteri. A part, altres Bacteris i llevats addicionals també es poden trobar en els jardins d'*Attini* i poden funcionar com a mutualistes, per exemple, pels enzims digestius o secretar antibiòtics.

## Mutualisme dels tèrmites: Fungicultura en les *Macrotermittinae*

D'unes 2600 espècies de tèrmites que s'han descrit, 330 espècies de la subfamília *Macrotermittinae* són dependents obligats del cultiu de fongs, per menjar. Aquesta relació va aparèixer aproximadament entre 24 i 34 milions d'anys enrere, a les selves Africanes. El comportament del cultiu de fongs es va originar només una vegada en els tèrmites, i a més, a diferència de les *attini*, és van especialitzar en el cultiu d'un sol gènere de fongs, amb un sol linatge ancestral de *Termitomyces*, que es va diversificar en diversos grups específics de cultius, cadascun associat, gairebé exclusivament, amb un grup també específic de tèrmites fungícoles (Mueller et al. 2002).

Dins de cada un d'aquests grups de tèrmites, però, els conreus s'intercanvien amb freqüència entre els linatges d'aquests. Això és anàleg a una situació en què diferents linatges humans s'especialitzen en cultius particulars, per exemple de blat de moro, i els productors de blat de moro podrien canviar entre el cultiu de qualsevol tipus de varietat de blat de moro, però no podrien canviar fàcilment al cultiu de blat a patata. Per tant, el tèrmites agricultors semblen haver evolucionat amb adaptacions a determinats grups de conreus (per exemple, règims de fertilitzants específics), o els conreus han evolucionat amb adaptacions adequades només per a alguns agricultors (per exemple, els nutrients dels quals es beneficien només certs tèrmites), o tots dos (Mueller et al. 2002).

El *Termitomyces* és cultivat en bresques subterrànies que construeixen o bé al cor dels seus nius, o bé dispersats pel sòl. Les bresques són adobades contínuament amb els fems d'innombrables treballadors que s'alimenten de fusta, herba o fulles (Aanen et al. 2002). Després d'unes setmanes, el fong comença a produir una nodula vegetal, que són consumits pels tèrmites. Aquests són una font rica de Nitrogen, sucres i enzims. Aquests noduls també van coberts d'espores asexuats (conidis). Aquestes espores consumides són barrejades amb el farratge de plantes a l'intestí del tèrmita, i sobreviuen al trànsit intestinal, ja que són indigestibles. Així doncs, la durada del sediment fecal a les bresques, és funcionalment equivalent a la sembra d'un nou cultiu de fongs, ja que al descomposar-se la femta, sorgeixen les espores intactes i encara funcionals (Boddy et al. 2008). Amb aquest sistema s'asseguren un cultiu per a que les espores d'altres fongs no sobreviuen al tracte intestinal. Pel que fa a les bresques ja madures, també poden ser consumides, però tenen menys valor funcional que els noduls (Aanen et al. 2002, Mueller et al. 2002).

S'han suggerit dos models principals pel que fa a les transicions evolutives independents que han donat lloc a l'agricultura en els insectes. Aquests són el model de "primer el consum" o "consumption-first" (Mueller et al. 2001). El model de "consumption-first", el model que probablement funcioni amb els tèrmites, un linatge d'insectes inicialment comença a incorporar els fongs en la seva dieta, més generalista. Més endavant s'acaba convertint en un micòfag especialitzat, i finalment, evoluciona adquirint adaptacions per al cultiu de fongs. En el model de transmission-first, probablement el linatge de l'insecte comença a tenir una associació amb un fong, fent servir aquest darrer a l'insecte com a vector de dispersió de les espores (Mueller et al. 2002). Això acaba derivant en una nutritió a partir del fong ja que aquest ha d'ofrir quelcom a canvi de la seva vida, i finalment, es converteix en un conrador de fongs. En una tercera possibilitat, l'associació insecte-fong evoluciona perquè els insectes originalment utilitzaven els fongs com una font d'antibiòtics (Aanen et al. 2005).

Pel que fa a les formigues *Attine*, no està clar si l'agricultura va sorgir d'un estat de micòfag ancestral, per adquisició d'antibiòtics, o per vectorització dels fongs (Mueller et al. 2001). L'agricultura dels tèrmites probablement es va originar a través del model consumption-first, per que moltes espècies de tèrmites no agrícies són atrets per la fusta infectada de fongs, i s'ha alimenten, el que suggereix que els ancestres no agrícies dels tèrmites ja s'alimentaven amb dels fongs.

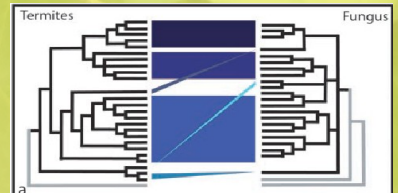


Figura 3: Mueller et al. 2002. La figura mostra un cladograma on es fa un resum dels diferents linatges de tèrmites fungícoles amb els pertinenents linatges de fongs. En negre els mutualistes, en gris, els no mutualistes.

Pel que fa al procés de cultiu, comença amb la colonització d'un nou territori. El nou niu és fundat, generalment per un parell de reproductors, el futur rei i reina, que generaran la nova colònia. Aquests es segellen permanentment en una cambra d'argila, anomenada la cambra real, on tenen la primera ventrada de treballadors no reproductors (Aanen et al. 2005). Aquesta etapa fundacional del niu, quan comencen a sortir els primers treballadors, generalment es produeix durant la temporada de pluges, època en què els fongs *Termitomyces* produeixen estructures de fructificació. Durant la fructificació, els *Termitomyces* dels nius més madurs envien creixements micelars cap a la superfície i formen els bolets, productors d'espores. Aquestes espores es produeixen sexualment (meioticament), i són, per tant, diferents de les espores asexuals produïdes a les bresques. Aquestes espores sexuals poden ser retornades al niu pels tèrmites per a la inoculació de bresques noves, o poden dispersar-se pel vent. Són aquestes espores les que es pensen que són escolides pels fungícoles a l'hora de fundar un nou niu, el que explica els alts nivells observats de translocació lateral de conreus. En la majoria de les espècies de tèrmites, les noves colònies adquireixen la soa inicial del fong a cultivar d'aquesta manera, la qual és una condició primitiva (ancestral) que va sorgir en l'origen de la fungicultura dels tèrmites, i encara la practiquen la gran majoria (Aanen et al. 2002).

Les excepcions són dos linatges derivats que van sorgir més tard en l'evolució, un és el gènere *Microtermes*, en el què les noves reines porten espores asexuals en les seves entranyes com inòcul d'arrancada per als nous nius, i la singular espècie *Macrotermes bellicosus*, en què el noi rei és l'única portador d'espores (Boddy et al. 2008). Aquestes excepcions, doncs, transmeten l'herència de forma vertical. Per realitzar la dispersió, intereixen espores de fongs abans de marxar del seu niu natal, o més comunament recullen espores. Curiosament, aquests linatges de tèrmites també són excepcionals en què les estructures de fructificació de fongs no s'han observat en els seus nius, el que suggereix que l'evolució de l'herència dels fongs de pares a fills en els nous nius ha portat a l'abandó de la fructificació sexual com a part integral de la simbiosa fong-tèrmita (Aanen et al. 2002). Aquest sistema i les seves peculiaritats és força semblant al de les *Attini* superiors.

Atès que l'adquisició de nous inòculs de fongs és relativament inespecífica, només certes espècies de fongs semblen sobreviure, ja que hi ha una eliminació selectiva dels no desitjats. Segons Aanen et al. 2002, hi ha dos possibles processos en l'etapa fundacional del niu per dur a terme aquesta selecció: o bé els primers treballadors seleccionen activament una varietat per la nova bresca (per exemple, mitjançant la filtració d'espores adequades en el farratge ingerit, dins dels seus intestins (Boddy et al. 2008), o bé les condicions de creixement específiques previstes pels tèrmites seleccionen indirectament afavorint a certs cultius.

## El perquè d'aquesta convergència

Així doncs, és pot veure que aquesta convergència evolutiva té arrel en els comportaments i hàbitats que duïen a terme abans que es produís el mutualisme. Sigui com sigui, ja hi havia relació amb els fongs, tant en els tèrmites com en les formigues, i el fet d'aprofitar aquest nívol ecològic disponible, va facilitar la selecció d'aquest comportament. A més, queda clar que es va adaptar a la nova bresca (per exemple, mitjançant la selecció activa d'una varietat per la nova bresca), el que suggereix que és demostra amb la diversificada demostrada a partir d'un antecessor comú, i la persistència del sistema que encara es troba avui dia, més de 40 milions d'anys després del primer cultiu. Curiosament, no es coneix cap cas de reversió de la vida agrícola cap a la vida lliure en cap dels nou linatges d'insectes agrícies, el que suggereix que la transició a la fungicultura és un canvi dràstic i possiblement irreversible que limita en gran mesura l'evolució posterior (Mueller et al. 2002), o que és una gran adaptació, molt viable, que aporta grans avantatges als seus participants, o totes dues. A més, cal remarcar que l'ésser humà, milions d'anys després, també va fer seu aquest sistema d'alimentació, i encara avui dia és utilitzat.

Resumint, en la fungicultura dels tèrmites i de les formigues hi ha una clara convergència evolutiva, totalment casual, on l'única forma ancestral comú varen ser les diferents relacions i necessitats establertes amb els fongs, relacions i necessitats força diferents i variables, que han acabat convergint en la fungicultura. Possiblement, el fet de trobar-se en selves, i la conseqüent lluita de nívolos constants que hi ha, degut a la gran diversitat, va afavorir aquesta especialització.

## Bibliografia:

- Boddy L, Frankland JC, West PW. 2008. Ecology of Saprobial Basidiomycetes. The British Mycological Society, Elsevier Ltd. Chapter 9: Interactions between Basidiomycota and Invertebrates, pp. 155-179.
- Aanen DK, Gerardo NM, Mueller UG, Scholtz TR, Shi DL. 2008. The evolution of agriculture in insects. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, Vol. 36, pp. 563-595.
- Aanen DK, Eggleston P, Rosland-Lefevre C, Goldberg-Frider T, Rosenthal S, Boomsma JJ. 2002. The evolution of fungus-growing termites and their mutualistic fungal symbiotes. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 99:14887-92.
- Caldera EA, Paulsen MJ, Song G, Currie CR. 2009. Insect Symbiosis: A Case Study of Plant, Prey, and Fungus-Growing Ants. Current Biology, 19(17):R92.
- Lopes CE, Mueller UG, Rodrigues A, Salomon SE, Sosa-Cabes J, Scholtz TR, Vasconcelos HHL. 2011. Nesting biology and fungiculture of the fungus-growing ant, *Myrmecocryptus caryandensis*: New light on the origin of higher attine agriculture. Journal of Insect Science and Technology, Vol. 11, Article 182.
- Mueller UG, Bohner S, Scholtz TR. 1998. The evolution of agriculture in ants. Science 281:2034-2038.
- Mueller UG, Scholtz TR, Currie CR, Rosland-Lefevre C, Boomsma JJ. 2001. The origin of the attine ant-fungus mutualism. The quarterly review of biology 76, No. 2.
- Mueller UG, and Gerardo N. 2002. Fungus-growing insects: Multiple origins and diverse evolutionary histories. Molecular Ecology, Patterson Laboratories, University of Texas, Austin.
- Mueller UG. 2002. Ant versus Fungus versus Mutualism: Ant-Cultivar Conflict and the Deconstruction of the Attine Ant-Fungus Symbiosis. The American Naturalist, Vol. 160, No. 54.